

# 疾病小鼠模型系列之肝癌篇

诱导肝癌发生的相关因素特别多，诸如：病毒，化学致癌物，酒精等，但其确切的发病机制目前尚不清楚。因此，建立与人类肝癌生物学特性相近的动物模型，对于肝癌发病机制的研究以及药物开发具有重要的现实意义。

前面疾病模型专题已经为大家介绍了**肺癌及胃癌**的小鼠模型，今天是疾病模型专题第三讲，小编将为大家介绍**肝癌**相关的小鼠模型。

近年来，肝癌的发病率在全球呈上升趋势。根据美国癌症学会官方期刊发表的《2018年全球癌症统计数据》报告显示，肝癌发生率高居恶性肿瘤第六位，是导致癌症相关死亡的第四大疾病。其中，中国的肝癌病例数占全世界总数的55%，肝癌已经成为我们的国家病。诱导肝癌发生的相关因素特别多，诸如：病毒，化学致癌物，酒精等，但其确切的发病机制目前尚不清楚。因此，建立与人类肝癌生物学特性相近的动物模型，对于肝癌发病机制的研究以及药物开发具有重要的现实意义。

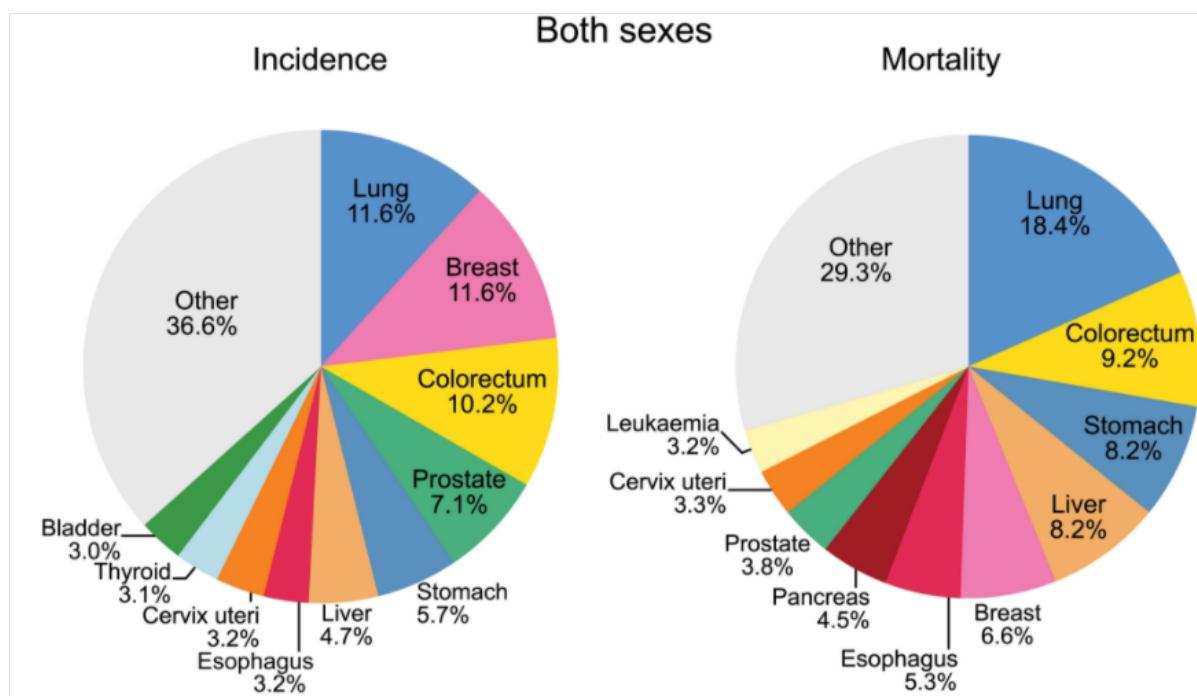


Fig1. 排名前10的癌症在全球范围内的发病和死亡占比

首先我们一起来了解肝癌基本知识！

## 肝癌的分类

肝癌主要分为原发性及继发性两种。

- 原发性肝癌：肝细胞或肝内胆管细胞发生的癌肿，为我国常见恶性肿瘤之一。原发性肝癌根据不同的组织类型分为：肝细胞肝癌（HCC）和肝内胆管细胞癌（ICC），其中HCC最为常见，约占70-85%。
- 继发性肝癌：又称为转移性肝癌，其他脏器的肿瘤细胞经过血液、淋巴或直接侵入肝脏引发的肿瘤。

## 肝癌的发展进程

肝癌的发生是一个多阶段逐渐演变恶化的过程，从最初的肝炎到肝硬化，再到最后的肝癌，是一个多步骤的发展过程。



Fig2.肝损伤不同阶段

由于不同病因会引发不同基因的改变，导致肝癌具有异质性，因此肝癌模型不具有普遍性。接下来，小编就目前常用的肝癌模型进行综述，供广大研究者进行参考。

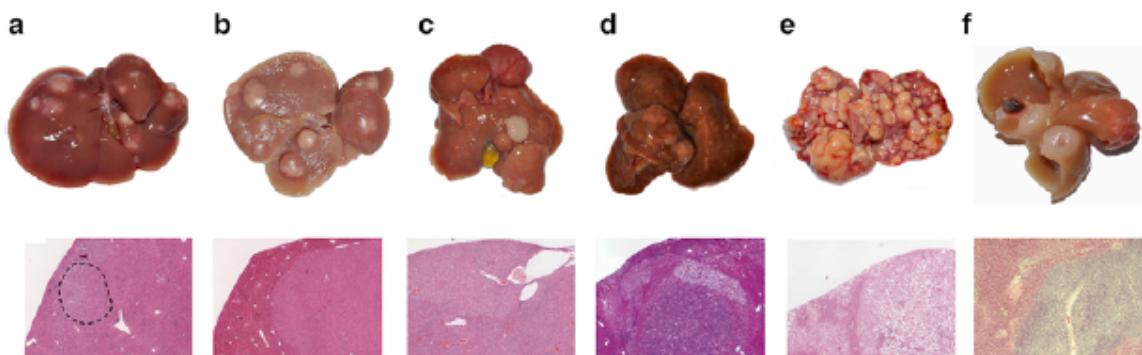


Fig3. 常见的肝癌模型，上图为肝脏解剖图，下图为病理图。

( a.DEN诱发的肝癌; b. DEN+CCl4诱发的肝癌; c.Mdr2肝特异性敲除引发的肝癌; d.Tak1肝特异性敲除引发的肝癌; e.Pten肝特异性敲除引发的肝癌; f.原位注射肿瘤细胞引发的肝癌 )

## 常见的肝癌动物模型

### 1. 诱发性肝癌模型

许多化学致癌剂达到足够的剂量及时间可诱发动物形成肿瘤。常用的肝癌诱导剂包括：二乙基亚硝胺 (DEN) 、黄曲霉素B1(AFB1)、四氯化碳 (CCl4) 等。

- 二乙基亚硝胺 (DEN)：DEN是常见的化学致癌物，不仅可以诱导肝癌的发生，同时也可以诱导胃癌、皮肤癌及血液肿瘤等的发生。DEN可诱导DNA烷基化损伤，从而导致肿瘤发生。研究表明，DEN诱导肝癌的发生不仅与注射剂量及时间相关，还与小鼠的品系，性别及年龄相关。
- 黄曲霉素B1(AFB1)：AFB1是黄曲霉菌、寄生曲霉菌等菌株产生的次生代谢产物。AFB1主要通过改变DNA结构，引起DNA化学损伤，从而诱发肝癌的形成。
- 四氯化碳 (CCl4)：CCl4的肝毒性主要分为两个阶段，首先，在肝内代谢产生自由基，自由基可造成细胞膜损伤；其次，可引起炎症应答反应，导致炎症因子、趋化因子及其他促炎因子的分泌，直接导致肝脏损伤，这种反复的损伤、炎症、修复最终会导致肝纤维化及肝癌的发生。

诱发性肝癌模型优点：可以模拟肿瘤发生的3个过程，即损伤，硬化和肿瘤。

诱发性肝癌模型缺点：诱导周期长，致死率高，个体间肝癌发生的时间，部位及病灶数等不均一。

### 2. 移植性肝癌模型

移植性肝癌小鼠模型是指将小鼠或人的肝癌组织、细胞株或其他恶性肿瘤（如乳腺癌）移植到小鼠体内形成的动物模型。是肝癌研究常用的模型之一，适用于抗癌药物临床前的药效评价。

目前，常见的移植性肝癌模型主要分为两种，一种是将人源的肝癌细胞系 (HepG2、Hep3B、SMMC-7721、HuH7等) 接种到免疫缺陷小鼠体内，称为CDX模型 (cell-line-derived xenograft)，另一种是将来源于患者的肝癌组织块接种到免疫缺陷小鼠体内，称为PDX模型 (patient-derived xenograft)。上述这些移植性肝癌小鼠模型可以通过异位和原位移植获得。

- 异位移植：主要是通过将肿瘤细胞和组织移植到小鼠皮下实现。

优点：成瘤率高，周期短，肿瘤的大小和位置较易控制，个体差异小，另外，对宿主的影响类似，易于客观判断疗效。

缺点：缺乏肿瘤微环境的影响，该模型不能很准确模拟肿瘤细胞在体内生长。

- 原位移植：主要是通过浆膜下注射肝癌细胞和外科原位移植肿瘤块实现。

优点：原位生长能更好的模拟肿瘤细胞在体内生长的微环境，药物疗效预测更加精准。

缺点：外科移植手术程序复杂且价格昂贵，另外，难于快速检测肿瘤生长及其对药物的反应。

### 3. 基因工程肝癌模型

利用基因工程手段构建的肝癌小鼠不仅能从动物整体的组织器官水平上进行研究，而且还可以深入到细胞和分子水平，为肝癌的发病机制、药物筛选和临床医学研究提供理想的实验动物模型。

- **Mdr2 敲除小鼠**

Mdr2基因，也被称为Abcb4，该基因编码一种膜结合磷脂翻转酶，帮助磷脂进入胆汁。进入胆汁中的磷脂与胆盐、胆固醇等形成混合微胶粒，一方面有助于胆固醇的溶解，另一方面可以灭活胆盐的离子去垢活性，防止其对肝细胞及胆管细胞造成损伤。因此，当Mdr2缺失时，会导致胆管内磷脂浓度降低，缺少磷脂的胆汁成分可能会导致胆管受到损伤，胆石沉淀，诱发炎症并进一步导致肝癌的发生。研究表明：Mdr2敲除小鼠在出生后2-3周，即可出现肝细胞损伤、血管扩张及导管增生的表型，8-9周后，小鼠会出现肝纤维化症状，16个月后，大部分小鼠会发生肝癌病变。

- **Tak1 肝特异性敲除小鼠**

Tak1，又名TGF $\beta$  Activated Kinase 1（转化生长因子 $\beta$ 激活激酶1），属于MAP3K家族的成员。TAK1作为细胞内重要的分子，可以被TGF- $\beta$ 、IL-1、BCR、TCR以及神经酰胺等细胞因子激活，激活后的TAK1通过介导一系列信号通路参与机体许多重要的生理及病理过程，如：增殖凋亡，天然免疫及获得性免疫应答等。研究表明：特异性敲除肝细胞中的Tak1基因，4周后即可诱发肝细胞发生凋亡及坏死，4个月后可诱发原发性肝脏肿瘤，且这些肿瘤在组织学和遗传学上与人类肝癌相似。

- **Pten肝特异性敲除小鼠**

PTEN是磷酸酶与张力蛋白类似物，具有蛋白磷酸酶和脂质磷酸酶的活性，主要通过拮抗PI3K/ATK信号通路调控多种生命过程。在一些高度恶性的肿瘤中常出现Pten的缺失。Pten全身性敲除的纯合子小鼠常伴有胚胎致死，杂合子小鼠可发展出多器官肿瘤，在肝脏中特异性敲除Pten基因，可诱发脂肪细胞增殖，脂肪肝和肝纤维化等症状，该模型可用于复制脂肪肝向肝癌转化的进程。

- **Apc肝特异性敲除小鼠**

APC(adenomatous polyposis coli，结肠腺瘤样息肉病基因)是Wnt/ $\beta$ -catenin信号的拮抗剂，APC作为抑癌基因家族成员之一，在肿瘤的发生和Wnt/ $\beta$ -catenin活化中发挥着关键作用。Apc肝特异性敲除小鼠中，8~9个月后67%的小鼠可以观察到明显的肿瘤发生。

- **Mir-122肝特异性敲除小鼠**

miRNAs 的异常表达被证实与肝癌的发生具体相关性。鉴于miRNA可能是治疗肝癌的潜在靶点，目前多种miRNA基因修饰肝癌模型已建立。其中Mir-122全身性敲除小鼠在第5周开始出现炎症，89%的雄性和23%的雌性小鼠在第10个月出现肝肿瘤。Mir-122肝脏特异性敲除小鼠在第8~10周开始出现炎症，50%雄性和10%雌性小鼠在第12个月出现肝肿瘤。

- **Myc肝特异性过表达小鼠**

c-Myc基因（也叫Myc）在许多肿瘤中存在着异常表达，其在细胞增殖、生长代谢、血管生成、细胞恶性转化及凋亡中起着极为重要的调节作用。在肝脏中特异性的过表达Myc基因，2月龄时会自发肝癌。取小鼠的肝脏组织进行HE染色，可见细胞排列无序，胞核不清，空泡样变性结构，肝小叶结构消失，利用增殖marker Ki67进行免疫荧光检测，与对照组相比，实验组小鼠肝组织的细胞分裂增殖旺盛，符合肿瘤组织的特性。

**基因工程肝癌模型优点：**基因工程肝癌小鼠是肝癌领域非常重要的研究工具，为肝癌发病机制的探索、药物筛选和临床医学研究提供理想的实验模型。

**南模生物可提供包含肝癌在内的多癌种小鼠疾病模型，并且可根据客户研发需要提供诱发性肿瘤小鼠模型、基因工程小鼠肿瘤模型定制、PDX模型以及各类基于细胞系的异体移植肿瘤模型服务。**

如果您有以下模型方面的需求，欢迎随时咨询。

类型	模型	目录号
诱发性	DEN	None
	CCL4	None
	DEN+CCL4	None
移植性	HepG2	NM-G02-1
	Hep3B2.7	NM-G01-1
	PDX	None
基因工程	HBV-Tg	NM-TG-00003
	Pten-CKO	NM-CKO-18004
	H11-(Myc)	NM-KI-00039

Table1：南模生物可提供的肝癌相关服务

南模生物自主构建的60种肝癌PDX模型，成功复制了病人肿瘤的异质性，保留了原发瘤的表型特征，为珍贵肿瘤样本的保存和传代提供了载体。该模型能够让您在不同的临床背景下为药物疗效及分析做出快速测试，为新药开发和针对病人个性化治疗靶向制剂的预测提供可靠工具。

若想了解更多肿瘤模型，可点击菜单在线咨询，同时敬请期待后期推文。